

THESIS

MUNICH

1967

Ultraviolettabsorption von Extrakten aus normalen, hypertrophischen und insuffizienten Kaninchenherzen und deren Beeinflussung durch Herzglykoside.

Karl *C* H a v e r k a m p f

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

ULTRAVIOLETTABSORPTION VON EXTRAKTEN AUS NORMALEN,
HYPERTROPHISCHEN UND INSUFFIZIENTEN KANINCHENHERZEN
UND DEREN BEEINFLUSSUNG DURCH HERZGLYCOSIDE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Karl H a v e r k a m p f
aus München

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent:	Prof. Dr. H. NOWY
Correferent:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 7. 1967

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung	Seite 5
Eigene Versuche und Methodik	Seite 9
Ergebnisse	Seite 11
Besprechung der Ergebnisse und Diskussion	Seite 23
Zusammenfassung	Seite 30
Literaturnachweis	Seite 32
Lebenslauf	

EINLEITUNG

Nachdem es vor allem Szent Györgyi (63) und Weber (71) gelang, einzelne fibrilläre Muskelproteine zu isolieren, konnten die Vorgänge bei der Muskelkontraktion weitgehend aufgeklärt werden (24, 25). Leider konnte jedoch bis heute keine zufriedenstellende Antwort gegeben werden auf die Frage nach den zugrundeliegenden Störungen dieser Vorgänge, wie sie bei einer Herzinsuffizienz beobachtet werden.

Die bisherige Annahme, daß Versorgungsschwierigkeiten für das Entstehen einer Insuffizienz verantwortlich seien, wird von neueren Autoren übereinstimmend abgelehnt (5, 8, 39, 75). Die Energiebereitstellung bleibt intakt, die Läsion muß an einer energienutzenden Stelle, vor allem in der Fraktion der kontraktilen Proteine gesucht werden. Es mußte deshalb interessant sein, Veränderungen der Herzmuskelproteine bei einer experimentellen Herzhypertrophie und Insuffizienz zu verfolgen.

Eine entsprechende Untersuchung wurde von Meerson (32) durchgeführt. Bei einer experimentellen Herzhypertrophie von Kaninchenherzen war die Proteinsynthese in der Hypertrophiephase stark erhöht, in der stabilen Phase wieder normal. In der Dekompensationsphase fand sich bei konstantem Herzgewicht eine Dilatation, die Proteinsynthese sank ab. Da der Verlust der Kontraktilität Hand in Hand geht mit einer Störung der normalen Proteinsynthese, scheint diese ein entscheidender Faktor in der Entwicklung einer Herzinsuffizienz zu sein.

Die Hypertrophie, mit der der Herzmuskel auf eine Erhöhung der Leistungsanforderung reagiert, geht also einher mit einem Anstieg des Actomyosin gehaltes, die Konzentration der nicht kontraktilen Proteine sinkt dabei ab (36). Mit dem letzteren Anteil kommt es möglicherweise auch zu einer relativen Einbuße von Enzymen, gerade jenen Substanzen, die für einen funktionierenden Stoffwechsel und die weitere Synthese kontraktiler Proteine verantwortlich sind.

In der histologischen Struktur finden diese Vorgänge Ausdruck in einer Verschiebung der Kern-Plasma-Relation, die Kernzahl bleibt unverändert, die Kernvolumenzunahme ist vergleichsweise gering (34). Da angenommen werden darf, daß eine Vermehrung der Chromosomensätze nur bei echten Mitosen, nicht aber bei Kernvolumenzunahme oder Amitosen stattfindet, ist bei einer Herzhypertrophie mit einem konstanten DNS-Gehalt zu rechnen (23). Während die RNS sich den veränderten Bedingungen also rasch anpaßt, sinkt der DNS-Gehalt relativ ab (37). Bei voll ausgeprägter Herzhyper-

trophie dürfte somit ein weiteres hypertrophisches Wachstum wegen der begrenzten Vermehrungsfähigkeit der Nucleinsäuren und des Syntheseapparates nicht möglich sein.

Die Verminderung der Kontraktilität von Actomyosin aus insuffizienten Herzen gegenüber dem aus normalen Herzen konnte experimentell nachgewiesen werden (6, 20). Benson (3) fand neben einem geringeren Actomyosin-gehalt in insuffizienten Herzen auch die durch ATP hervorgerufene Abnahme der Viskosität vermindert. Olson (41, 42) führt die beschriebenen Unterschiede im physicochemischen Verhalten auf eine veränderte Molekularstruktur des Myosins aus insuffizienten Herzen zurück. In Zusammenarbeit mit Schwartz (39) fand er für Myosin aus normalen Herzen (Myosin C) ein Molekulargewicht von 226000, für Myosin aus insuffizienten Herzen (Myosin F) eines von 695000. Die Viskositäten beider Myosine verhielten sich reziprok zueinander. Die Autoren vermuten, durch die Vergrößerung des Moleküls sei die Polarität vermindert. Eine Polymerisation trete auf, bei der es durch Streckung der Wasserstoffbrücken und deren Sprengung zu einer Aggregation komme. Die Gegenwart von Myosin F aber soll die Synthese von normalem Myosin C verhindern. Diese Ergebnisse sind allerdings nicht unbestritten geblieben.

In einer Untersuchung von Gesamtextrakten mit der gesamten löslichen Proteinfraction aus normalen, hypertrophierten und insuffizienten Herzen könnte somit jene Änderung, die in dieser Fraktion im Verlauf einer Insuffizienz auftritt, zu erfassen sein. Die vorliegende Arbeit dient dieser Absicht.

Ebenso unvollständig wie die Kenntnisse von den Vorgängen im Herzmuskel beim Entstehen einer Insuffizienz blieb bisher das Wissen über den Wirkungsmechanismus der Herzglycoside. Da hier eventuell Zusammenhänge bestehen, schlossen wir die Herzglycoside in unsere Untersuchungen mit ein und suchten einen faßbaren Einfluß auf die Fraktion der löslichen Proteine. Trotz der umfangreichen Forschung auf diesem Gebiet ist wenig mehr bekannt geworden als die chemische Struktur und eine Reihe biochemischer Effekte (12).

Die frühere Annahme, die Glycosidwirkung beruhe auf einer Verbesserung der Stoffwechsellage (45, 74), konnte durch Bing's Versuche mit dem Coronarsinuskatheter widerlegt werden (5). Zahlreiche Autoren beschäftigen sich mit dem Einfluß der Herzglycoside auf den Mineralstoffwechsel und suchen den Ort der Glycosidwirkung an der Zellmembran (13, 19, 21, 26, 62). Wichtig für die Digitaliswirkung ist auf alle Fälle die Gegenwart von Ca^{++} (6) und der Quotient K/Ca (11, 58). Ungewiß bleibt aber, ob diese Befunde als Erklärung für die spezifische Glycosidwirkung ausreichen.

Es konnte nachgewiesen werden, daß Herzglycoside die Muskelzellmembran durchtreten und im Cytoplasma vorhanden sind (22, 56), dabei bleiben im Stoffwechsel ATP, CP und die ATPase unberührt (9, 76). Erst toxische Digitalisdosen entkoppeln die oxydative Phosphorylierung an den Mitochondrien (31). Allerdings stimuliert Digitalis eine durch Na^+ und K^+ aktivierte ATPase, die in den Organen gefunden wurde (10, 27, 48). Bei der Trennung von Organfraktionen wurden aber sehr geringe Mengen von Digitalis an den Mitochondrien gefunden, so daß eine spezifische Glycosidwirkung an diesem Ort sehr unwahrscheinlich ist. 89 % des Digitoxins fand sich in der Fraktion mit den löslichen Proteinen (55). Messungen mit radioaktivem Digitalis zeigten vor allem eine Anreicherung in den A-Banden der Sarkomeren (57). Bei der Erforschung der direkten Wirkung auf kontraktile Proteine zeigten Glycerinextrahierte Muskelfasermodele eine Steigerung der durch ATP hervorgerufenen Kontraktion, wenn Herzglycoside zusammen mit Ca^{++} zugegeben wurde (16, 49). Die Kontraktilität von Actomyosinfäden aus insuffizienten Menschenherzen erwies sich gegenüber herzgesunden herabgesetzt, nach Zugabe von Digitoxin und Ca^{++} wieder normal (28).

Wasser stellte eine geringe Abnahme der Viskosität von Actomyosinlösungen durch zahlreiche, auch herzinaktive Glycoside fest. Die Thixotropie dagegen (Zeitabhängigkeit der Viskosität beim Fließen von Lösungen mit konstanter Geschwindigkeit) verminderten nur herzaktive Glycoside. Damit wäre eine Korrelation zu positiv inotropen Wirkung gefunden (70). Schon in früheren Versuchen hatte Waser (68) mit Hilfe von Ultrafiltrationsmessungen eine Bindung zwischen Herzglycosiden und Actomyosin aus dem Psoasmuskel des Kalbes gefunden. Entsprechend fand Schaer (52) 1 Mol Digitoxin an 1 Mol Myosin gebunden. Da das Myosinmolekül in zwei L-Meromyosin und ein H-Meromyosin gespalten werden kann, verlegt er den Ort der Bindung an das H-Meromyosin.

Eine direkte Übertragung dieser Ergebnisse auf den Herzmuskel bleibt aber fragwürdig, da sowohl Unterschiede zwischen Skelett- und Herzmuskulatur (14, 59) als auch die veränderte Situation am insuffizienten Herzen nicht außer acht gelassen werden dürfen (35, 42). Auch Stutz (61) konnte keinen Einfluß von Cedilanid auf die Arbeitsleistung, Spannung und die Kontraktionsgeschwindigkeit extrahierter Muskelstreifen aus Hundeherzen finden.

Spratt (60) untersuchte elektrophoretisch die wasserlöslichen Proteine aus Herzen von vorher mit Digitoxin i. V. injizierten Ratten. Er fand keine signifikante Bindungsaffinität für Digitoxin an die Proteine. Nur ausgesalzene Proteine stimmen mit entgegengesetzten Ergebnissen überein, vor allem bei rein dargestelltem Albumin wächst die Bindung von Digitoxin.

Möglicherweise wird Digitoxin an eine unbekannte Proteinkomponente gebunden, die zusammen mit Albumin bei der Salzfraktionierung ausfällt. Bei gleicher elektrischer Ladung würde sie im Pherogramm mit diesen wandern. Auf keinen Fall aber ist geklärt, mit welchem spezifischen Protein das Digitoxin assoziiert ist.

Die Vorstellung, die Spezifität der Glycosidwirkung entspreche einer bevorzugten Anreicherung im Herzmuskel (51), ist nicht mehr aufrecht zu erhalten (4, 18, 47). Der Begriff der Kumulation der Substanz muß durch den Begriff der Kumulation der Wirkung im Herzmuskel ersetzt werden (43).

Durch Vergleich der Lichtabsorptionsspektren der Gesamtextrakte aus Kaninchenherzen versuchten wir zum einen, Änderungen in der Proteinzusammensetzung im Verlauf einer Insuffizienz nachzuweisen, zum anderen suchten wir einen faßbaren Einfluß der Herzglycoside auf die löslichen Proteine.

Mit unserer Methodik wurden nur die chromophoren Elemente der Proteine erfaßt. Eine unveränderte Lichtabsorption sagt nicht aus, ob das Herzglycosid Bindungen zu nicht chromophoren Gruppen eingehen kann oder nicht.

EIGENE VERSUCHE

Methodik:

Wir führten die Untersuchungen an Kaninchenherzen durch, und zwar an:

- a) Normalherzen
- b) Hypertrophierten Herzen
- c) Insuffizienten Herzen

a) Gewinnung der Normalherzen:

Die Herzen von gesunden Tieren in Urethannarkose wurden herausgeschnitten, noch schlagend Tyrodelösung durchspült und anschließend in flüssigem Stickstoff schlagartig und stark unterkühlt. Eine Sektion der Tiere schloß sich an, um Anhaltspunkte über ihren Gesundheitszustand zu gewinnen.

b) Hypertrophierte Herzen:

Sie entwickelten sich nach experimenteller Aorteninsuffizienz. Operationsmethode nach Nowy (36).

c) Insuffiziente Herzen

erhielten wir nach einer 2 - 3 Monate später erfolgten Verstärkung des Klapfenfehlers.

Die löslichen Proteine aus dem Herzmuskelgewebe sollen in Lösung gebracht, diese Lösung dann soweit verdünnt werden, daß sie in einen günstigen Meßbereich des Photometers gelangt.

Wir homogenisierten 1 g Herzmuskelgewebe in 10 ml einer 0,35-molaren Pufferlösung aus NaCl, primärem und sekundärem Natriumphosphat. Bei einer Temperatur von etwa + 5° C ließen wir das Gemisch aus Herzmuskelgewebe und Pufferlösung ca. 20 h extrahieren. Aus einer Lösung zentrifugierten wir die nicht gelösten Gewebsbestandteile in einer hochtourigen Kältezentrifuge heraus (30 Min. 17000 g). Den Überstand ließen wir 24 h in einem Cellophanschlauch gegen Pufferlösung dialysieren. Bei der gewählten Ionenstärke werden neben den leicht löslichen Sarkoplasmaproteinen auch Actomyosin und L-Myosin extrahiert.

Jeweils 1 ml des Dialysats versetzten wir mit

- A) 10 ml Pufferlösung,
- B) 10 ml glycosidhaltiger Pufferlösung

und gelangten bei dieser Verdünnung in den günstigen Meßbereich des

Photometers. Die hergestellten Lösungen A und B ließen wir etwa 20 h bei + 5° C stehen. Vor dem Photometrieren filterten wir die Lösungen durch eine Glasfritte.

Am Photometer arbeiteten wir in einem Wellenbereich von 230 - 320 mmy. Die Messungen verliefen nach folgendem Programm: Bestimmung der Extinktionskurven von

- A) Proteinextrakt in Pufferlösung
- B) Proteinextrakt in glycosidhaltiger Pufferlösung
- C) Glycosidhaltiger Pufferlösung
- D) Küvettenfehler (Pufferlösung gegen Pufferlösung)

Alle Messungen erfolgten gegen die Pufferlösung als Nullwert. Da wir von den 10 ml Extrakt jeweils nur 2 ml zu einer Meßserie benötigten, konnten wir mehrere Messungen aus dem gleichen Material durchführen.

Bei der Darstellung der Kurven ergaben sich nach Berücksichtigung des Küvettenfehlers je Meßserie die Absorptionskurven von:

- A) Proteinextrakt
- B) Proteinextrakt mit Glycosidzusatz
- C) Glycosidpufferlösung
- D) Kalkulierte Kurve, gebildet aus der Summe von A und C.

Verwendete Lösungen:

Pufferlösung Ionenstärke 0,35

NaCl	0,2	mMol. Gew.	58,454	=	11,6908 g
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	0,006	mMol. Gew.	156,025	=	0,9362 g
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	0,0048	mMol. Gew.	178,014	=	8,5447 g
Aqua bidest.					ad 1000,0

Glycosid-Pufferlösung

Digitoxin 10⁻⁷ mol. Mol. Gew. 764 = 0,00764 mg

Pufferlösung ad 1000,0

Endkonzentration etwa 10⁻⁸ mol.

Lanatosid-C 10⁻⁵ mol. Mol. Gew. 984 = 9,84 mg

Pufferlösung ad 1000,0

Endkonzentration etwa 10⁻⁶ mol.

Verwendete Geräte:

Homogenisator (Fa. Bühler, Tübingen)

Photometer PM QII (Fa. Carl Zeiss)

Glasfritte 3G1 (Schott und Söhne, Mainz).

ERGEBNISSE

Extrakte aus 25 Herzen wurden untersucht.

7 davon stammten von "Normaltieren", nicht ausgewählte männliche Kaninchen im Gewicht von 3500 bis 5500 g. Bei 12 Tieren mit Aorteninsuffizienz hatte sich eine chronische Herzinsuffizienz entwickelt, erkennbar an den Zeichen des konsekutiven Rechtsversagens (Stauungsstranssudate, Stauungsleber). Die restlichen 6 Tiere zeigten eine Herzhypertrophie ohne Insuffizienzzeichen.

Ultravioletspektren von Extrakten aus normalen Herzen:

Es wurden jeweils Extrakte aus dem linken Ventrikel gemessen. Bei 2 Tieren haben wir den Extrakt vor dem Photometrieren zum Teil mit der Glasfritte gefiltert, zum anderen Teil 30 Min. scharf zentrifugiert.

Die Extinktionswerte zeigen ein Minimum bei 248 mmy. Die Kurve steigt dann zu einem Maximum bei 270 mmy, um sich dann bei noch größeren Wellenlängen hyperbelartig der Nulllinie zu nähern.

Tabelle 1

Tier Nr.	Minimum		Maximum	
	= mmy	Extinktion	λ = mmy	Extinktion
495	250	1,354	270	1,546
Z	248	0,952	270	1,113
N 171	248	0,515	270	0,574
N VII	a) 250	0,477	270	0,544
	b) 250	0,469	270	0,535
	c) 250	0,475	270	0,535
N V	a) 248	0,445	270	0,535
	b) 248	0,441	270	0,532
	c) 248	0,436	270	0,527
V ₆	a) 248	0,520	270	0,641
	b) 248	0,520	270	0,639
	c) 248	0,516	270	0,638
V ₁₁	a) 248	0,602	270	0,727
	b) 248	0,602	270	0,729
	c) 248	0,599	270	0,723

ABBILDUNG I

Absorptionsspektren
der normalen Herzen

Abcisse = Wellenlänge in mmy
Ordinate = Extinktion

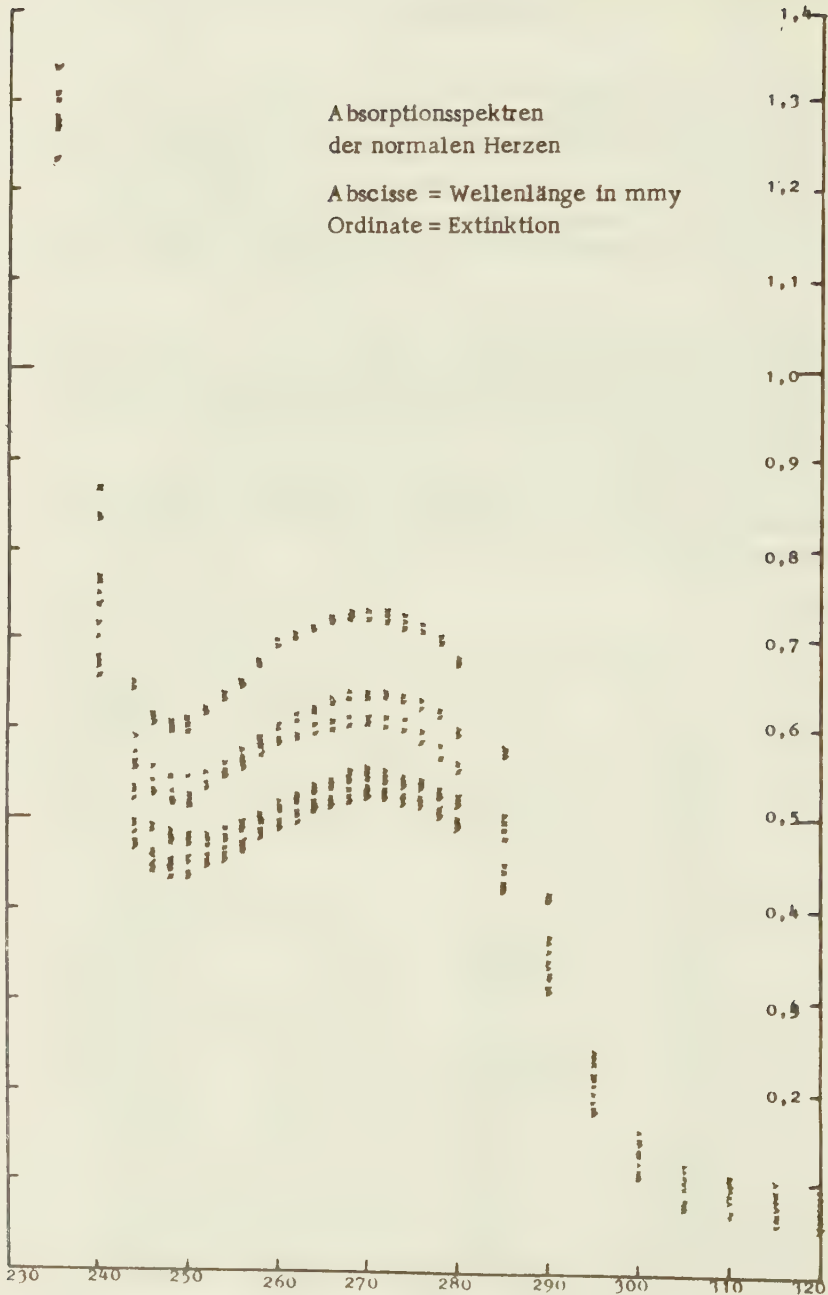


Tabelle 2 Messungen von linken Ventrikelextrakten insuffizienter Herzen.
In Klammern ist das relative Herzgewicht (Normal 2,4 g/kg)
angegeben.

Tier Nr.	Minimum		Maximum	
	λ = mmy	Extinktion	λ = mmy	Extinktion
498 (5, 8)	250	1,210	262	1,263
523 (5, 0)	a) 250	0,743	264	0,792
	b) 248	0,715	264	0,769
	c) 248	0,752	264	0,813
500 (4, 85)	248	0,530	266	0,590
515 (4, 4)	a) 250	0,626	268	0,688
	b) 250	0,629	268	0,688
	c) 250	0,629	268	0,687
508 (5, 6)	a) 248	0,599	268	0,679
	b) 248	0,599	268	0,679
	c) 248	0,602	268	0,685
508 Kontr.	248	0,516	268	0,609
522 (4, 8)	a) 250	0,476	276	0,608
	b) 250	0,470	276	0,609
	c) 250	0,476	276	0,613
522 Ko.	a) 248	0,515	270	0,600
	b) 248	0,511	270	0,602
	c) 248	0,515	270	0,602
519 (5, 5)	a) 248	0,525	270	0,639
	b) 248	0,526	270	0,641
	c) 248	0,528	270	0,640
531 (5, 1)	a) 254	0,855	268	0,898
	b) 254	0,860	268	0,898
530 (4, 0)	a) 250	0,632	270	0,719
	b) 250	0,632	270	0,721
	c) 250	0,641	270	0,731
510 (4, 1)	a) 248	0,455	270	0,551
	b) 248	0,458	270	0,552
	c) 248	0,458	270	0,554
505 (3, 7)	a) 248	0,622	270	0,713
	b) 248	0,622	270	0,716
	c) 248	0,622	270	0,716

Fortsetzung von Tabelle 2

Tier Nr.	Minimum		Maximum	
	= mmy	Extinktion	= mmy	Extinktion
Werte nach Reinigung mit der Zentrifuge				
505	a) 248	0,453	270	0,555
	b) 248	0,459	270	0,566
Messungen von Extrakten aus rechten Ventrikeln				
506 (3, 4)	250	1,360	268	1,465
498	248	0,753	266	0,820

Ergänzende Bemerkungen zu den Tieren:

498 und 506

Die Extrakte aus den linken Ventrikeln sind statt 10-mal nur 6-mal verdünnt. Die Extinktionswerte liegen daher höher.

508

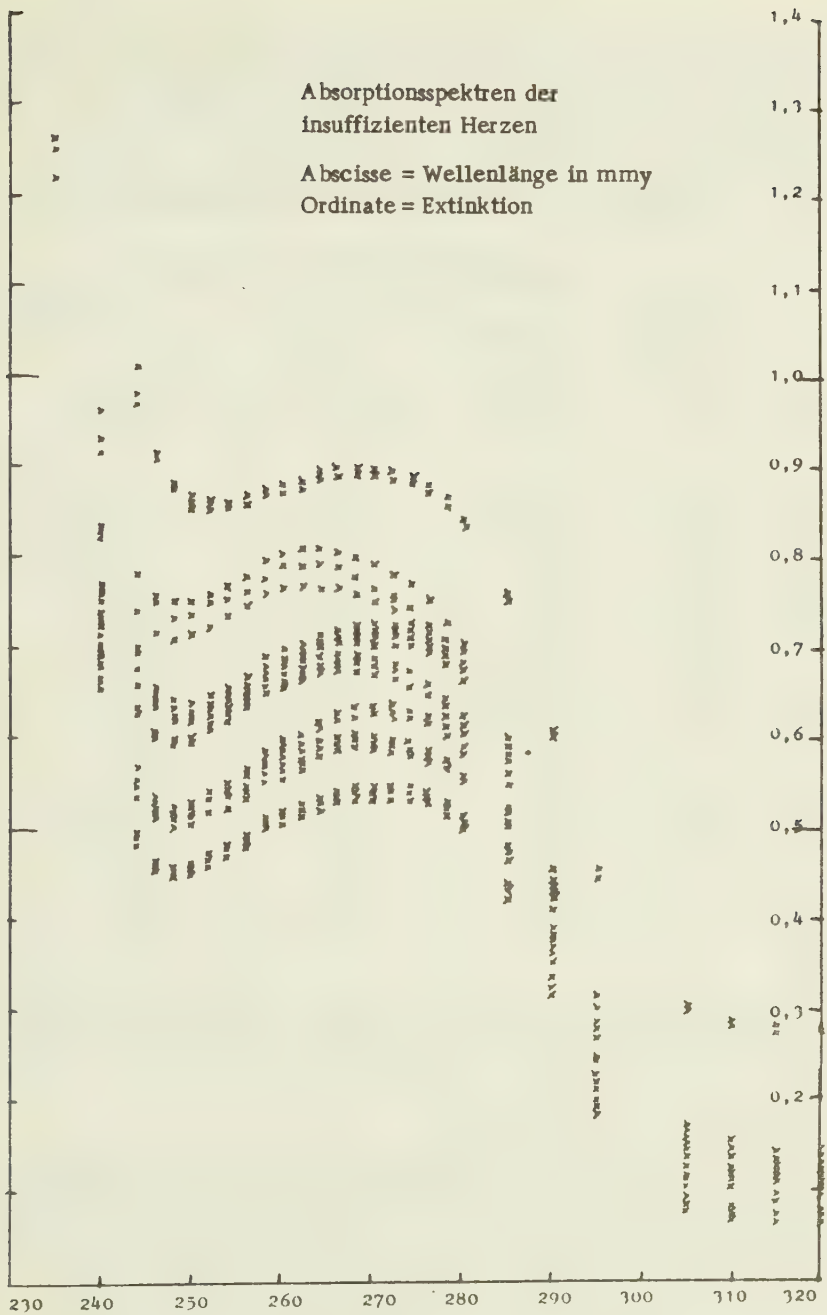
Von diesem Tier führten wir 1 Monat nach dem ersten Ansatz eine neue Versuchsreihe durch. Wir benötigten diese Kontrolle für einen Vergleich der beiden Messungen vom Tier.

522

Die erste Messung für dieses Tier ergab einen ungewöhnlichen Kurvenverlauf mit einem Maximum bei 276 mmy. Eine Erklärung hierfür konnten wir nicht finden. Wir haben deshalb von diesem Tier eine neue Versuchsreihe angesetzt, ebenfalls einen Monat später und erhielten bei der zweiten Messung normale Werte.

531

Dieses Tier ist nachts eingegangen. Die Sektion erfolgte erst am folgenden Tag. Das Minimum liegt ungewöhnlich bei 254 mmy.



Die restlichen 6 Tiere führen wir in einer gesonderten Gruppe auf, da bei ihnen keine eindeutige Herzinsuffizienz festzustellen war. Die Herzgewichte liegen aber über dem Durchschnittsgewicht der Normalherzen, z. T. im gleichen Bereich wie die der insuffizienten Herzen.

Tabelle 3 Messungen von Extrakten der linken Ventrikel hypertrophierter Herzen

Tier Nr.		Minimum		Maximum	
	λ = mmy	Extinktion	λ = mmy	Extinktion	
513	a) 248	0,500	268	0,590	
(3,6)	b) 248	0,501	268	0,592	
	c) 248	0,504	268	0,591	
516	a) 248	0,485	270	0,593	
(5,1)	b) 248	0,489	270	0,593	
	c) 248	0,501	270	0,608	
532	a) 250	0,612	270	0,709	
(4,0)	b) 250	0,612	270	0,710	
	c) 250	0,619	270	0,715	
491	a) 248	0,470	270	0,575	
(4,8)	b) 248	0,483	270	0,593	
	c) 248	0,483	270	0,594	
493	a) 248	(0,380)	270	(0,472)	
(4,1)	b) 248	0,430	270	0,538	
	c) 248	0,435	270	0,543	
514	248	0,547	270	0,696	
(3,8)					

Für das Tier 493 ist die Messung a wegen einer fehlerhaften Verdünnung nur zur Bestimmung von Minimum und Maximum zu verwerten.

Proteinextrakte mit Glycosidzusatz

Wir haben 12 Messungen mit Lanatosid-C durchgeführt, die restlichen 18 Messungen mit Digitoxin. Die Extinktionen für die Glycosidlösungen wurden für jeden Ansatz neu bestimmt. Sie lagen für Lanatosid-C bei 230 mmy zwischen 0,155 und 0,175, näherten sich in ihrem ersten Abschnitt sehr schnell der Nulllinie, um bei 250 mmy Extinktionen zwischen 0,020 und 0,042 zu erreichen, bei 270 mmy schließlich Werte zwischen 0,000 und

0,030. Die Digitoxinspektren zeigten den gleichen Verlauf, nur lagen die Werte bei kleineren Wellenlängen erheblich tiefer.

Die folgenden Tabellen geben neben der gemessenen Extinktion die kalkulierte Extinktion an, die sich aus der Summe der Extinktionen von Proteinextrakt und Glycosidlösung ergibt. Ein L-C vor der Nummer des Tieres besagt, daß dem Extrakt Lanatosid-C, ein Dig, daß Digitoxin zugesetzt wurde.

Tabelle 4 Linke Ventrikel von Normalherzen

Tier Nr.	Minimum				Maximum			
	$\lambda = \text{mmy}$		Extinktion		$\lambda = \text{mmy}$		Extinktion	
	gem	kalk	gem	kalk	gem	kalk	gem	kalk
L-C 495	250	250	1,368	1,377	270	270	1,568	1,575
L-C Z	248	248	1,032	1,040	270	270	1,199	1,192
L-C N 171	248	248	0,545	0,542	270	270	0,615	0,603
L-C NVII	a 250	250	0,507	0,500	270	270	0,555	0,548
	b 250	250	0,490	0,491	270	270	0,532	0,534
	c 250	250	0,499	0,498	270	270	0,544	0,541
Dig N V	a 248	248	0,470	0,462	270	270	0,562	0,555
	b 248	248	0,467	0,467	270	270	0,557	0,555
	c 248	248	0,475	0,471	270	270	0,563	0,549
Dig V ₆	a 248	248	0,557	0,561	270	270	0,676	0,676
	b 248	248	0,561	0,565	270	270	0,679	0,680
	c 248	248	0,568	0,566	270	270	0,679	0,682
Dig V ₁₁	a 248	248	0,642	0,645	270	270	0,750	0,755
	b 248	248	0,645	0,640	270	270	0,756	0,757
Werte zentrifugierter Extrakte								
L-C NVII	a 250	250	0,478	0,480	270	270	0,530	0,541
	b 250	250	0,459	0,460	270	270	0,517	0,520
Dig N V	a 248	248	0,492	0,502	270	270	0,587	0,595
	b 248	248	0,500	0,504	270	270	0,954	0,595

Abb. III auf Seite 18 zeigt die Spektren für das Tier Nr. V₆.

ABBILDUNG III

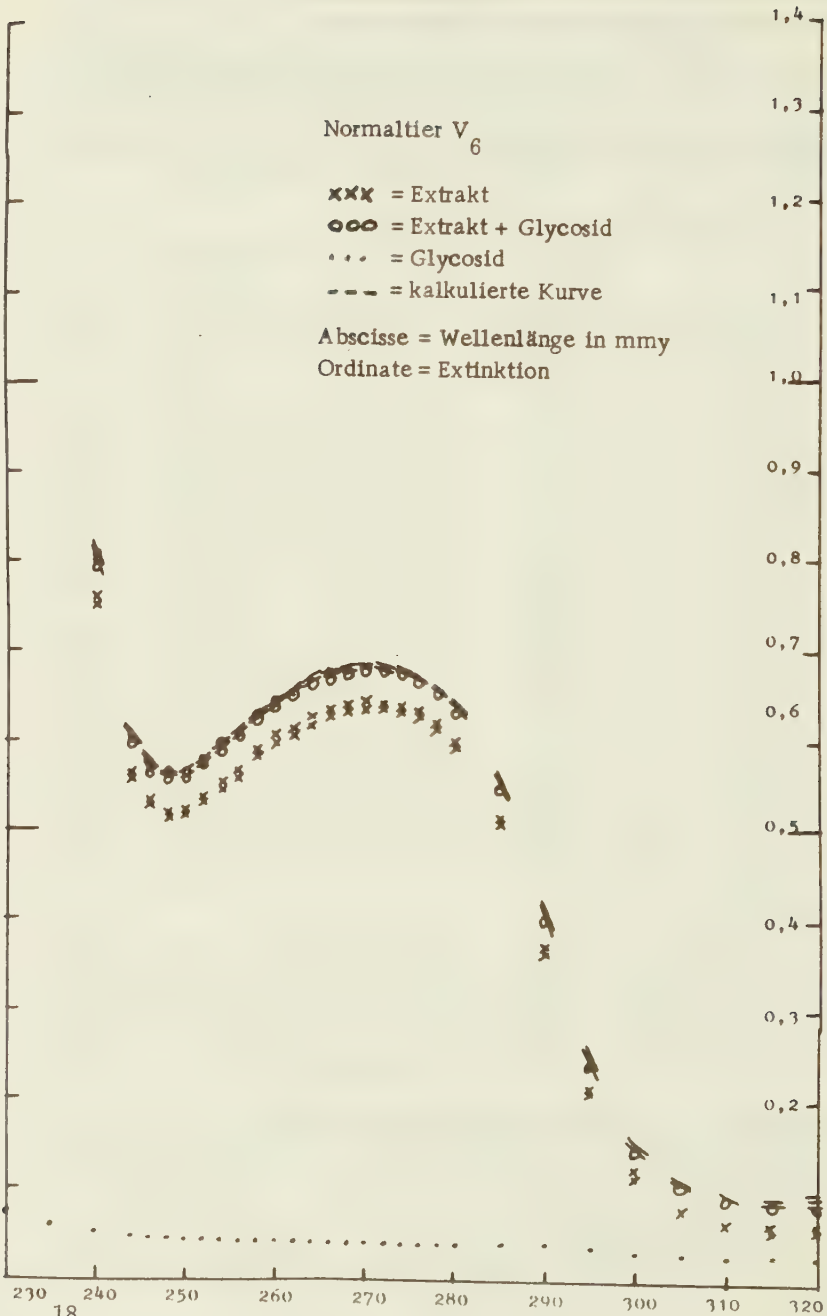


Tabelle 5 Linke Ventrikel insuffizienter Herzen

Tier Nr.	Minimum				Maximum			
	$\hat{f} = \text{mmy}$		Extinktion		$\hat{f} = \text{mmy}$		Extinktion	
	gem	kalk	gem	kalk	gem	kalk	gem	kalk
L-C 498	250	250	1,240	—	262	262	1,265	—
L-C 523	a 248	248	0,682	----	264	264	0,741	----
	b 248	248	0,655	----	264	264	0,710	----
	c 248	248	0,716	----	264	264	0,778	----
L-C 500	248	248	0,543	0,540	266	266	0,595	0,594
L-C 515	a 250	250	0,654	0,646	268	268	0,709	0,703
	b 250	250	0,655	0,645	268	268	0,708	0,700
	c 250	250	0,674	0,665	268	268	0,732	0,728
Dig 508	a 248	248	0,621	0,647	268	268	0,693	0,734
	b 248	248	0,654	0,647	268	268	0,732	0,724
	c 248	248	0,656	0,650	268	268	0,731	0,730
Dig 508 K.	248	248	0,574	0,571	268	268	0,658	0,653
Dig 522	a 250	250	0,549	0,498	276	276	0,680	0,625
	b 250	250	0,550	0,498	276	276	0,679	0,636
	c 250	250	0,558	0,499	276	276	0,683	0,630
Dig 522 K.	a 248	248	0,552	0,557	270	270	0,632	0,631
	b 248	248	0,567	0,561	270	270	0,644	0,633
	c 248	248	0,567	0,561	270	270	0,646	0,633
Dig 519	a 248	248	0,566	0,565	270	270	0,673	0,674
	b 248	248	0,569	0,566	270	270	0,678	0,675
	c 248	248	0,568	0,569	270	270	0,678	0,676
Dig 531	a 254	254	0,900	0,868	268	268	0,935	0,911
	b 254	254	0,913	0,903	268	268	0,943	0,948
	c 254	254	0,913	0,870	268	268	0,943	0,911
Dig 530	a 248	248	0,665	0,685	270	270	0,749	0,761
	b 248	248	0,679	0,687	270	270	0,762	0,766
	c 248	248	0,680	0,695	270	270	0,764	0,775
Dig 510	a 248	248	0,507	0,501	270	270	0,591	0,575
	b 248	248	0,509	0,501	270	270	0,593	0,582
	c 248	248	0,519	0,503	270	270	0,603	0,583
Dig 505	a 248	248	0,700	0,689	270	270	0,778	0,763
	b 248	248	0,700	0,689	270	270	0,778	0,766
	c 248	248	0,701	0,689	270	270	0,778	0,766

Fortsetzung von Tabelle 5

Tier Nr.	Minimum				Maximum			
	λ = mmy Extinktion				λ = mmy Extinktion			
	gem	kalk	gem	kalk	gem	kalk	gem	kalk
Werte zentrifugierter Extrakte:								
Dig 505 a	248	248	0,500	0,495	270	270	0,599	0,582
b	248	248	0,510	0,501	270	270	0,611	0,592
Rechte Ventrikel								
L-C 506	250	250	1,405	1,376	268	268	1,480	1,479
L-C 498 a	248	248	1,127	-----	266	266	1,210	-----
b	248	248	0,718	-----	266	266	0,780	-----

Die kalkulierten Werte für die linken Ventrikel der Tiere 498 und 523 und den rechten Ventrikel von 498 fehlen wegen einer fehlerhaften Bestimmung der Glycosidextinktionen. Für 498, 506, 522 und 531 siehe S. 14.
Die Abbildung IV s. S. 21 zeigt die Spektren des Tieres Nr. 505.

Tabelle 6 Linke Ventrikel hypertrophierter Herzen

Tier Nr.	Minimum				Maximum			
	λ = mmy Extinktion				λ = mmy Extinktion			
	gem	kalk	gem	kalk	gem	kalk	gem	kalk
Dig 513 a	248	248	0,526	0,527	268	268	0,616	0,613
b	248	248	0,529	0,528	268	268	0,619	0,614
c	248	248	0,532	0,531	268	268	0,623	0,615
Dig 516 a	248	248	0,551	0,550	270	270	0,650	0,653
b	248	248	0,559	0,554	270	270	0,657	0,653
c	248	248	0,566	0,566	270	270	0,659	0,658
Dig 532 a	250	250	0,649	0,646	270	270	0,737	0,731
b	250	250	0,649	0,647	270	270	0,739	0,732
Dig 491 a	248	248	0,574	0,510	270	270	0,668	0,595
b	248	248	0,579	0,522	270	270	0,671	0,613
c	248	248	0,588	0,523	270	270	0,678	0,614
Dig 514	248	248	0,629	0,628	270	270	0,759	0,756
Dig 493 a	248	248	0,465	(0,402)	270	270	0,566	(0,482)
b	248	248	0,466	0,452	270	270	0,567	0,548
c	248	248	0,467	0,457	270	270	0,567	0,553

Die kalkulierte Extinktion der Messung a vom Tier Nr. 493 darf nur zur Lagebestimmung von Minimum und Maximum verwertet werden, die Extinktion dagegen nicht, da zu dieser Messung zu wenig Material zur Verfügung stand.

Abbildung V S. 22 zeigt die Spektren des Tieres Nr. 513.

ABBILDUNG IV

Insuffizientes Tier Nr. 505

xxx = Extrakt

ooo = Extrakt + Glycosid

... = Glycosid

--- = Kalkulierte Kurve

Abscisse = Wellenlänge in mmy

Ordinate = Extinktion

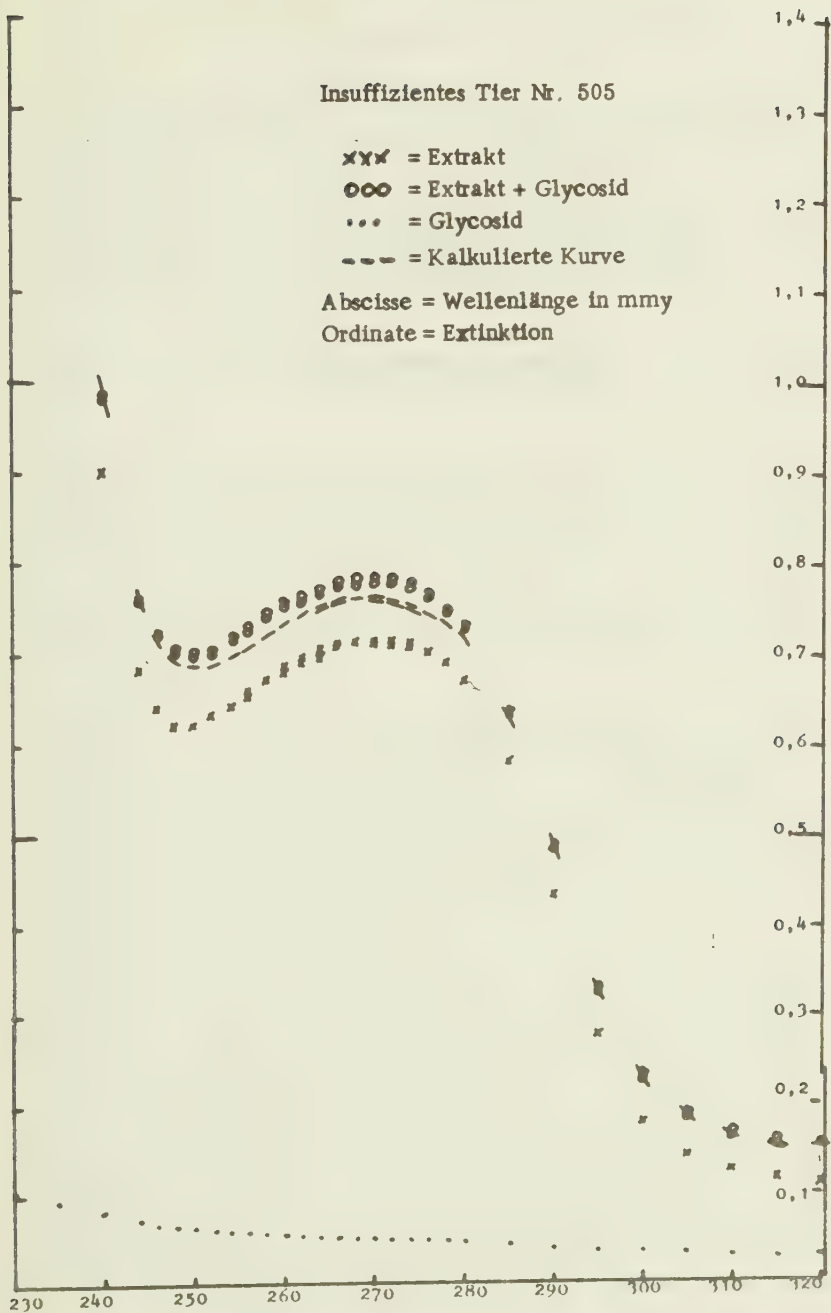
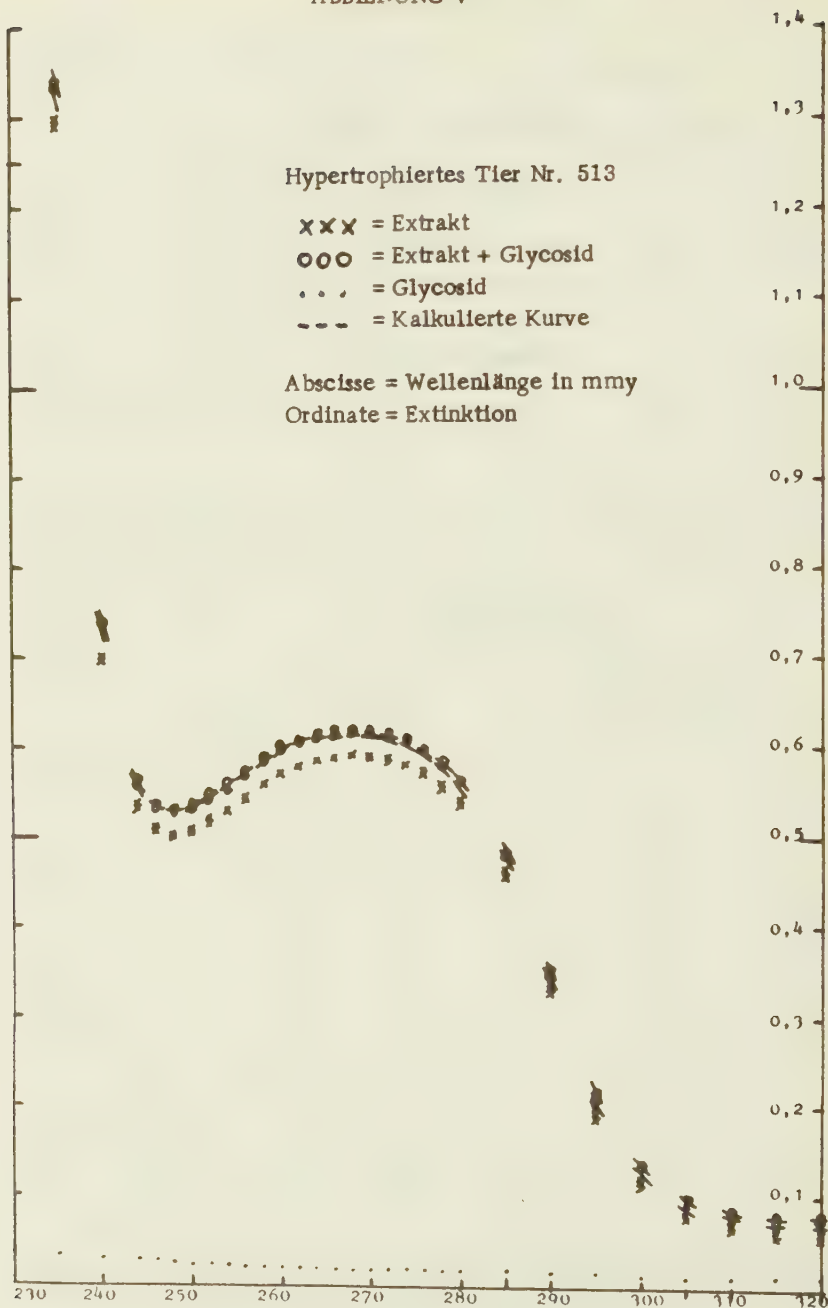


ABBILDUNG V



BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Absorptionscharacteristica farbloser Proteine im Wellenbereich über 250 mmy hängen von der Gegenwart verschiedener aromatischer Aminosäuren ab, die in die Proteine eingebaut sind. Es sind vor allem Phenylalanin, Tyrosin, Thryptophan und Histidin. Ohne sie fehlt in diesem Bereich eine typische Absorption, da die übrigen Aminosäuren keine chromophoren Strukturen enthalten. Über 250 mmy ist die Absorption also leicht überschaubar, da es nur wenige und chemisch leicht isolierbare Absorbenten gibt (1, 53).

Die Absorption unter 250 mmy bis in den Bereich von 210 mmy ist sehr komplex, da hier eine Vielzahl von Einflüssen auf die Absorption vorhanden sind.

Unter 210 mmy wird das Spektrum vor allem durch Peptidbindungen bestimmt, das wesentliche Strukturmerkmal des Proteinmoleküls. Die Absorption in diesem Bereich ist also abhängig von der Formation des Moleküls (72). So kommt es bei einem enzymatischen Abbau vor allem im Bereich kleiner Wellenlängen zu einer Spektraländerung entsprechend dem Verlust der Komplexität des nativen Proteins (2). Ebenso zeigen ph-Verschiebungen (1) und Temperaturänderungen (2) vor allem im Bereich unter 210 mmy charakteristische Spektraländerungen.

Im Meßbereich über 250 mmy werden ebenfalls typische, ph-abhängige Verschiebungen des Absorptionsspektrums beobachtet. Dabei scheint eine Ion-Dipol- oder eine Dipol-Dipol-Beziehung des Tyrosinmoleküls mit anderen Molekülgruppen im Proteinsystem eine entscheidende Rolle zu spielen. Auch eine allgemeine Expansion des Proteinmoleküls bei einem ph-Wechsel wird erwogen (72). Vor allem beim Rinderserumalbumin scheint eine solche Expansion in Bereichen unter 4,3 und über 10,5 einzutreten (64).

Yanary und Bovey (67) glauben, daß hydrophobe Gruppen verantwortlich sind, indem sie die Stellung polarer und unpolarer aromatischer Seitenketten im nativen Protein verändern. Wetlaufer (73) kommt auf Grund dieser Vorstellung zu der Annahme, daß Verschiebungen im UV-Spektrum nativer Proteine auf einer Strukturänderung des Moleküls beruhen, indem chromophore Gruppen des Moleküls aus dem Inneren an die Oberfläche transferiert werden.

Ein Ziel unserer Arbeit war es, durch vergleichende Messungen nach Änderungen im Gesamtextrakt der verschieden vorbehandelten Herzen zu fahnden. Die vorgefundenen Änderungen geben bei unserer Versuchsanordnung keine Auskunft über das Substrat, da Extrakte untersucht wurden, die ein Gemisch

der löslichen Proteine und andere nicht dialysierbare Substanzen, z.B. Nucleinsäuren enthielten.

Die folgende Tabelle zeigt die Verteilung der Minima und der Maxima auf die verschiedenen Wellenlängen:

Minimum $\lambda = \text{mmy}$	Normal- herzen	Hypertrophe Herzen	Insuff. Herzen
248	5	5	7
250	2	1	3
254			1
Maximum			
$\lambda = \text{mmy}$			
264			1
266			2
268		1	3
270	7	5	5
276			(1)

Die Minima liegen für alle Herzen zwischen den Wellenlängen 248 und 250 mmy. Eine Verschiebung des Minimums tritt bei der Entwicklung einer Insuffizienz nicht ein.

Nur das herzinsuffiziente Tier 531 schert mit seinem Minimum (bei 254 mmy) aus. Dieses Tier verstarb 2 Tage nach der 2. Operation, so daß das Herz nicht mehr schlagend entfernt werden konnte. Da bei Untersuchungen über Denaturierungsvorgänge von Actomyosin eine erhebliche Verschiebung des Minimums nach etwa 252 mmy gefunden wurde (30), nehmen wir an, daß autolytische Vorgänge für diese Abweichung verantwortlich sind. Zugleich können wir die einheitliche Lage der Minima der übrigen Spektralkurven als eine Bestätigung für das gute Funktionieren der von uns angewandten Konservierung der Substrate werten.

Die Verteilung der Maxima zeigt ein anderes Bild. Die Normalherzen liegen mit ihren Maxima einheitlich bei 270 mmy, mit einer Ausnahme auch die hypertrophierten, nicht insuffizienten Herzen. Bei den insuffizienten Herzen ist es jedoch zu einer gewissen Streuung gekommen, wenn auch die Mehrzahl der Maxima bei 270 mmy gefunden wurden.

Sehen wir von den ersten Messungen für das Tier 522 ab, die wir für unsere Beurteilung nicht verwerten wollen (siehe S. 14), so finden wir die abweichenden Maxima alle zu kleineren Wellenlängen hin verschoben.

Für rein dargestelltes Actomyosin aus gleichem Versuchsmaterial fand Gaukler (17) für normale und insuffiziente Herzen völlig identische Werte, auch im Verlauf der Spektralkurven fand er keine Änderung. Die von uns beobachtete Streuung ist also anderen, nicht vom Actomyosin abhängigen Effekten zuzusprechen.

Um welche Art von Veränderung es sich handelt, kann aus den vorliegenden Versuchen nicht abgeleitet werden. Ähnliche Spektralverschiebungen wurden von Ungar und Mitarbeitern (66) bei einer Spektralanalyse von Proteinextrakten aus Nervengewebe berichtet, das kurz zuvor erregt gewesen ist. Sie nehmen an, daß die Ursache hierfür in einer reversiblen Proteindenaturierung liegt, die im Zusammenhang mit dem Erregungsmechanismus auftritt.

Eine quantitative Auswertung der Extinktionen unserer Extrakte ist nicht zulässig. Zwar wurde unter gleichen Bedingungen gearbeitet, aber keine erschöpfende Extraktion der löslichen Proteine angestrebt.

Doch zeigt die folgende Tabelle, daß die Spektren der Extrakte insuffizienter Herzen die Tendenz haben, in höheren Extinktionsbereichen zu verlaufen (siehe auch Abb. I, S. 12 und Abb. II, S. 15).

Extinktion zwischen	Normal- herzen	Hypertr. Herzen	Insuff. Herzen
0,950 0,850			1
0,850 0,750			1
0,750 0,650	1	2	4
0,650 0,550	2	3	5
0,550 0,450	2	1	

Die Erwartung, es komme einmal wegen der herabgesetzten Proteinsynthese (32, 38), zum anderen wegen der schlechteren Extrahierbarkeit der im insuffizienten Herzen vorgeschädigten Proteine (3, 35, 36) zu einer herabgesetzten Extinktion für Extrakte aus insuffizienten Herzen, bestätigt sich also nicht. Die Ursache ist wohl darin zu suchen, daß bei der Lichtabsorption von hochmolekularen Eiweißstoffen grundsätzlich zwei Effekte vorhanden

sind, erstens die Lichtabsorption im eigentlichen Sinne durch Übergang des Moleküls in einen angeregten Zustand, zweitens die Schwächung des durch das Medium tretenden Lichtstrahles, der Tyndall-Effekt (53). Dieser zweite Effekt wird sich um so stärker bemerkbar machen, je schwerer die Eiweißstoffe in Lösung zu halten sind, also möglicherweise bei den insuffizienten Herzen.

Eine weitere Unklarheit ergibt sich daraus, daß nicht die gesamte Absorption der Proteine im Bereich über 250 mmy auf das Konto der aromatischen Aminosäuren zu gehen scheint (33). Schauenstein (53, 54) nahm an, daß die im Bereich unter 210 mmy vorhandene Absorption durch die Wasserstoffbrücken der Peptidstrukturen auch im Bereich größerer Wellenlängen eine zusätzliche Absorption hervorruft. Es ist jedoch zu schwierig, bei diesen hochmolekularen Systemen die zu solchen Messungen notwendigen Korrekturen vorzunehmen (1, 15).

Seither ist auf diesem Gebiet nur sehr wenig veröffentlicht worden, insbesondere die möglichen Effekte von gedehnten Wasserstoffbrücken zwischen Polypeptidketten auf die Absorptionscharakteristika von Proteinen bei Wellenlängen über 250 mmy sind noch nicht bekannt.

Verhalten der Absorptionsspektren nach Zugabe von Herzglycosiden

Wie wir einleitend berichtet haben, ist bisher eine große Zahl von Beobachtungen über direkte Beeinflussungen kontraktile Proteine durch Herzglycoside bekannt geworden. Ein eindeutiger Nachweis einer Bindung zwischen kontraktile Proteinen und Herzglycosiden als Grundlage der positiv inotropen Wirkung ist jedoch bisher nicht gelungen.

Bei Spektraluntersuchungen von Actomyosin aus Skelettmuskel fanden Robb und Mitarbeiter (50), daß nach Einwirkung von Digitoxin eine Depression des Actomyosinspektrums eintrat. Eine gleiche Wirkung auf die Absorptionskurve zeigten Kochsalz, Alkohol, Histamin und zahlreiche andere Substanzen. Ein direkter Zusammenhang zwischen dieser Beobachtung und der spezifischen Glycosidwirkung ist also sehr fraglich. Zudem konnte Gaukler (17) bei rein dargestelltem Actomyosin aus normalen und insuffizienten Kaninchenherzen keinen Einfluß eines Herzglycosids (Lanatosid-C) auf die Absorptionsspektren finden. Die Absorptionskurve des Herzglycosids addierte sich lediglich auf die des Actomyosins.

Unsere Messungen von Normalherzextrakten (S. 17) zeigen, daß bei keinem Extrakt die Lage des Minimums oder Maximums durch die Zugabe eines Herz-

glycosids verändert worden ist. Die Extinktionswerte der gemessenen Spektren stimmen oft überraschend genau mit den kalkulierten Werten überein. Auch wir finden hier lediglich eine Summation der Lichtabsorption des Herzglycosids auf die Absorption des Protheineextraktes. (Siehe auch Abb. III, S. 18).

Anders verhalten sich die Spektren der Extrakte aus insuffizienten Herzen (S. 19). Die Differenz zwischen der kalkulierten und der gemessenen Spektralkurve ist zum Teil erheblich größer, wie die folgende Tabelle zeigt.

Extinktions- differenz	Normal- herzen	Hypertr. Herzen	Insuff. Herzen
über + 0,009	1	2	4
bis + 0,009	1	2	3
bis + 0,006			2
bis + 0,003	2	2	1
Identische			
Extinktion			
bis - 0,003	2		
bis - 0,006			
bis - 0,009	1		
über - 0,009			1

Nur das herzinsuffiziente Tier 519 läßt sich mit seiner nur geringen Abweichung von den kalkulierten Werten mit den Normaltieren vergleichen. Dieses Tier wurde wegen einer Carotisperforation bei der 2. Operation vorzeitig getötet. Stauungszeichen fehlten, eine eindeutige Herzinsuffizienz bestand nicht.

Bei den anderen insuffizienten Tieren weicht die gemessene Extinktion von der kalkulierten stärker ab als bei den Normalherzen, zudem liegen die Spektren von den Normalherzen gleichmäßig über und unter die kalkulierten Spektren gestreut. Bei den insuffizienten Herzen liegen mit Ausnahme von 530 alle gemessenen Spektren höher als die kalkulierten, sowohl beim Minimum wie auch beim Maximum. Diese bleiben unbeeinflusst, neue Kurvensattel tauchen nicht auf.

Eine zusätzliche Abweichung findet sich bei den Tieren Nr. 500, 515, 508, 508K, 510 und 505 (siehe Abb. IV, S. 21). Hier decken sich zwischen den Wellenlängen 230 - 246 mmy die gemessenen und die kalkulierten Spektren. Ab dem Minimum bei 248 mmy kommt es zu einer Elevation der gemessenen über die kalkulierten Spektren, um etwa ab 290 mmy wieder identisch

mit den gemessenen Spektren zu verlaufen. Vom Tier Nr. 505 haben wir auch Messungen von Extrakten, die statt mit der Glasfritte mit der Zentrifuge gereinigt wurden. Sie zeigen das gleiche Bild.

Bei den Tieren mit hypertrophierten, nicht insuffizienten Herzen weichen zwei, 491 und 493, vom kalkulierten Spektrum erheblich ab. Die übrigen liegen etwa zwischen den normalen und insuffizienten Herzen. In keinem Fall findet sich eine Depression des gemessenen Spektrums unter das kalkulierte.

Diesen durch ein Herzglycosid ausgelösten Abweichungen scheint somit eine Veränderung im Herzmuskel zugrundezuliegen, die schon im Stadium der Hypertrophie einsetzt, im Stadium der Insuffizienz ihr volles Ausmaß erhält.

Unsere Beobachtung einer Elevation der Spektralkurve steht in Widerspruch zu der von Robb (50) gefundenen Depression des Actomyosinspektrums. Gaukler (17) fand demgegenüber keine spektrophotometrisch faßbaren Einflüsse von Herzglycosiden auf rein dargestelltes Actomyosin.

Da im insuffizienten Herzen mit pathologisch veränderten Proteinen gerechnet werden kann (36), ist denkbar, daß Herzglycoside nur mit diesen in irgendeiner Weise reagieren, mit normalen Proteinen aus gesundem Herzmuskel aber nicht. Neben den Eiweißkörpern enthielten unsere Gesamtextrakte aber auch andere nicht dialysierbare Substanzen wie Nucleinsäuren, wahrscheinlich auch noch geformte Elemente, die durch Zentrifugieren nicht vollständig entfernt werden konnten, so daß eine ganze Reihe von Reaktionspartnern in Frage kommt.

Auch über die Art der Reaktion läßt sich keine Aussage machen. Alle bisher in der Literatur beschriebenen Spektralverschiebungen bei Kombination zweier verschiedener Substanzen sind streng an die spezifische Reaktion der beiden Agentien gebunden.

So beobachtete Klotz (29) bei Zugabe eines Moläquivalentes Kupferionen zu Rinderserumalbumin ein schwaches zusätzliches Absorptionsband. Da die Merkaptidnatur des Albumins stark bezweifelt wird, scheint nach Peters (44) eine echte chemische Bindung des Kupfers an den Stickstoffanteil des Asparaginsäurerestes die Ursache der Beobachtung zu sein.

Bei spektrophotometrischen Untersuchungen von Serumfraktionen bei bestimmten Krankheiten wie Lebercirrhose fand man einen merklichen Abfall der Lichtabsorption. Hier scheint die Ursache in der Absorption von Substanzen, die nicht zu den Proteinen gehören, durch die Serumproteine zu liegen (2).

Die Kombination von Trypsin und Protamin, das keine aromatischen Aminosäuren enthält, führt zu einer merklichen Blauverschiebung des Trypsinabsorptionsbandes. Nach einer Initialphase, in der das Protamin fermentativ abgebaut wird, kehrt die Absorption zu dem nicht gestörten Trypsinspektrum zurück. In diesem Fall scheint die Spektralverschiebung auf einer zeitweiligen labilen Komplexbildung des Protamins mit dem Trypsin zu beruhen (46).

Da die UV-Absorption von rein dargestelltem Actomyosin durch Herzglycoside nicht beeinflusst wird (17), kann der in unseren Untersuchungen beobachtete Effekt nur an einem anderen löslichen und nicht dialysierbaren Zellbestandteil entstanden sein.

ZUSAMMENFASSUNG

Von 25 Kaninchen mit normalen, hypertrophierten und insuffizienten Herzen wurden Herzmuskel-Salz-Extrakte spektrophotometrisch untersucht. Es zeigte sich, daß die UV-Spektralkurven für insuffiziente Herzen gegenüber den normalen Änderungen aufwiesen. Es wird diskutiert, welche Vorgänge im Herzmuskel für diese Änderungen verantwortlich sein können.

Nach einer Inkubation derselben Extrakte mit Digitoxin bzw. Lanatosid-C wurden die Spektralkurven abermals bestimmt. Hierbei fanden sich die Ultraviolettpektren löslicher Proteine aus Normalherzen durch Herzglycoside nicht verändert. Für hypertrophierte Herzen zeigten die Spektralkurven z. T. eine geringe, für insuffiziente Herzen eine deutliche Elevation nach Inkubation mit Herzglycosiden.

Diese Beobachtung spricht dafür, daß nur in chronisch überlasteten Herzen Zellfraktionen vorhanden sind, deren Ultraviolettabsorption durch Reaktion mit einem Herzglycosid verändert wird.

Herrn Prof. Dr. H. Nowy habe ich für das interessante Thema und seine stetige Hilfe bei der Bearbeitung herzlich zu danken.

LITERATURNACHWEIS

1. Beaven, G. H. The Ultraviolet Absorption Spectra of Proteins and related Compounds.
Adv. Spectroscopy INC NY 2, 331 (1961)
2. Beaven, G. H., Holyday, E. R. Ultraviolet Absorption Spectra of Proteins and Amino Acids.
Adv. Prot. Chem. 7, 320 (1952)
3. Benson, E. S. Composition and State of Proteins in Heartmuscle of normal Dogs and Dogs with Experimental Myocardial Failure.
Circulat. Res. 3, 221 (1955)
4. Bine, R., Friedmann, M. The Rate of Disappearance of Lanatosid-C and Digitoxin from Blood of Rats.
Circulation 1, 1182 (1950)
5. Bing, R. J., Maraist, F. M., Dammon, J. F., jr., Draper, A., jr., Heimbecker, R., Daley, R., Gerard, R., Calazel, P. Effect of Strophantus on Coronary Blood-flow and Cardiac Oxygen Consumption of Normal and Failing Human Hearts.
Circulation 2, 513 (1950)
6. Bing, R. J., Kako, K. Contractility of Actomyosinbands prepared from Normal and Failing Human Hearts.
J. Clin. Invest. 35, 727 (1952)
7. Bing, R. J. Metabolic Activity of Intact Heart.
Amer. J. Med. 30, 679 (1961)
8. Bing, R. J. Disturbances in Myocardial Metabolism.
Fschr. d. Cardiologie I (1956)
9. Bogatzky, M., Staub, H. ATP-System und übriger Phosphatstoffwechsel im normalen und akut insuffizienten Herzen unter der Behandlung mit Herzglycosiden.
Z. ges. exp. Med. 127, 425 (1956)

10. Bonting, S. L., Carravaggio, L. L.
Studies on sodium-potassium-activated Adenosintriphosphate.
V. Correlation of Enzyme Activity of Cation Flux and six Tissues.
Arch. Biochem. Biophys. 101, 37 (1963)
11. Bozler, E.
Evidence for ATP-Actomyosin-Complex in relaxed Muscle and its Response to Calcium-Ions.
Amer. Journ. Physiol. 168, 760 (1952)
12. Cerletti, A.
Pharmakologie der Herzglycoside.
Ges. f. Kreislaufforschung 26, 1 (1960)
13. Clarke, N. E., Moscher, R. E.
The Water and Electrolyte Content of the Human Heart in Congestive Heart Failure with and without Digitalization.
Circulation 5, 907 (1952)
14. Demling, L., Kinzlmeier, H., Henning, N.
Über die quantitative Zusammensetzung der Organproteine.
Z. ges. exp. Med. 122, 416 (1954)
15. Doty, A., Guidiscek, P. Optical Properties of Proteins.
The Proteins I, a. N. Y. Acad. Press (1953)
16. Edman, K. A. P.
Wirkung des Ouabains auf das Actomyosin der Herzmuskulatur.
Experimentia 7, 71 (1951)
17. Gaukler, G.
Über den Einfluß von Lanatosid-C auf Actomyosinlösungen normaler und hypertropher Kaninchenherzen. UV-Spectrophotometrische Untersuchungen.
Unveröffentl. Arbeit aus der Med. Poliklinik der Universität München (1964)
18. George, S. St., Bine, R., Friedmann, M.
Role of Liver in Extraction and Destruction of Digitoxin.
Circulation 6, 661 (1951)

19. Glynn, I. M. The Action of Cardiac Glycosides on Na- and
K-Movements in Human Red Cells.
Journ. Phys. 136, 148 (1957)

20. Hallaway, B.E., Turbak, C.E. Contractile Properties of Glycerol-
extracted Muscle Bundles from chronical
failing Canine Heart.
Circulat. Res. 6, 122 (1958)

21. Hadju, S., Leonard, E. The Cellular Basis of Cardiac Glycoside Action.
Pharm. Rev. 11, 173 (1959)

22. Harvey, S.C., Pieper, G.R. Intracellular Distribution of Digitoxin 14 in
Heart.
J. Pharm. Exp. Ther. 114, 14 (1955)

23. Hort, W. Quantitative histologische Untersuchungen an
wachsenden Herzen.
Virchows Arch. Path. Anat. 323, 223 (1953)

24. Huxley, A.F., Niedergerke, R. Structural Changes in Muscle during Contraction.
Interference Microscopy of living Muscle Fibers.
Nature, London 173, 971 (1954)

25. Huxley, H.E., Hanson, J. Changes in Cross-Striation of Muscle during
Contraction and Stretch and their Structural
Interpretation.
Nature, London 173, 973 (1954)

26. Iseri, L.T., Alexander, L.C., McCaughey, R.S., Boyle, A.F.,
Myers, G.B. Water and Electrolyte Content of Cardiac and
Skeletal Muscle in Heart Failure and Myocardial
Infarction.
Amer. Heart, Journ. 43, 215 (1952)

27. Kahn, J.B., jr. Proc. Intern. Pharmacol.
Meeting 1st. Stockholm 3, 111 (1961)
The McMillan Co. NY. 1963

28. Kako, K., Bing, R.J. Contractility of Actomyosinbands from Normal
and Failing Human Hearts.
J. Clin. Invest. 37, 365 (1958)

29. Klotz, J. M., Urquhart, J. M., Fiess, H. A.
Interaction of Metal Ions with the Sulfhydryl-
Group of Serum-Albumin.
J. Am. Chem. Soc. 74d, 5537 (1952)
- Klotz, J. M., Urquhart, J. M., Burkhard, R. K.
Structural Specificities in the Interaction
of some Organic Ions with Serum Albumin.
J. Am. Chem. Soc. 74a, 202 (1952)
30. Kofman, E. B., Kalamkanova, M. B.
Structural and Physiochemical Characteristics
of Proteins and Actomyosincomplex.
Biophysics USSR 3, 388 (1958)
31. Lee, K. S., Schwartz, A., Burstein, R.
An Effect of Cardiac Glycosides on Oxydative
Phosphorylation by Heart Mitochondria.
J. Pharm. Exp. Ther. 129, 123 (1960)
32. Meerson, H., Zayats, F. Changes in the Rate of Protein Synthesis in
the Myocardium during Compensatory Cardiac
Hyperfunction.
Bull. Exp. Biol. Med. 7, 32 (1960)
33. Neurath, H., Bailey, K. Spectroscopic Investigation of Proteins.
The Proteins NY. Acad. Press. INC I (1953)
34. Nieth, H.
Histologische und cytologische Untersuchungen
am menschlichen Herzmuskel nach Hypertrophie
und Insuffizienz.
Beitr. path. Anat. 110, 618 (1949)
35. Nowy, H., Seitz, W. Elektrophoretische Untersuchungen von Extrakten
des in Diastole, Systole und Starre fixierten
Kaninchenherzens.
Z. ges. exp. Med. 126,1 (1955/56)
36. Nowy, H., Frings, H. D., Walcher, A.
Proteinzusammensetzung des Myocards bei
experimenteller Herzhypertrophie
Z. ges. exp. Med. 131, 478 (1959)
37. Nowy, H., Frings, H. D. Nucleinsäuren im hypertrophierten Herzmuskel.
Z. ges. exp. Med. 132, 539 (1959)

38. Nowy, H. Untersuchungen über die Eiweißzusammensetzung des Myocards im zeitlichen Ablauf einer experimentellen Herzhypertrophie.
Z. ges. exp. Med. 135, 343 (1962)
39. Olson, R.E., Schwartz, D. Myocardial Metabolism in Congestive Heart Failure.
Medicine 30, 21 (1951)
40. Olson, R.E., Piatnek, D.A. Conservation of Energy in Heart Muscle.
Ann. NY. Acad. Sc. 72, 466 (1959)
41. Olson, R.E. Myocardial Metabolism in Congestive Heart Failure.
J. Chron. Dis. 9, 442 (1959)
42. Olson, R.E. An Abnormality of Cardiac Myosin associated with Congestive Heart Failure.
Amer. J. Med. 30, 692 (1961)
43. Orzechowsky, G. Herzmuskel und Herzglycoside.
Med. Welt 35, 1712 (1959)
44. Peters, T.J. Interaction of one Mole Copper with the Alpha Amino Group of Bovin Serum Albumin.
Biochem. Biophys. Acta 39, 546 (1960)
45. Peschel, E.S., Schleyer, G. Effect of Digitalisglycosides on the Oxygen-Consumption of Heartmuscle in vitro.
Circulation 19, 705 (1959)
46. Ravikovich, K.M. Spectroscopic Investigation of Actin fractions of Muscleproteins in Ontogenesis.
Doklady Akad. nauk. SSSR 79:5, 883 (1951)
47. Repke, K. Herzglycoside. Verteilung, Ausscheidung und Stoffwechsel bei der Ratte.
Arch. exp. Path. (Anat.) Pharm. 233, 271 (1958)
48. Repke, K. Proc. Intern. Pharm. Meeting 1 st.
Stockholm 3, 47 (1961)
The McMillan Co. NY. 1963
49. Robb, J.S. Shortening of Actomyosin threads not induced by Adenosintriphosphate.
Am. J. Physiol. 181, 39 (1955)

50. Robb, J.S., Grubb, M., Braunfelds, H.
A Spectrophotometric Study of Actomyosin.
Circulat. Res. 3, 525 (1955)
51. Rothlin, E., Bircher, R. Pharmakologische Grundlagen der Therapie
mit herzwirksamen Glycosiden.
Erg. Inn. Med. u. Kinderheilk. 5, 457 (1954)
52. Schaer, H.J. Über die Bindung von Herzglycosiden an Skelett-
muskelfmyosin des Kalbes.
Cardiologia 40, 48 (1962)
53. Schauenstein, E. Lichtabsorption von Eiweißstoffen.
Monatshefte d. Chem. 80, 820 (1949)
54. Schauenstein, E., Treiber, E.
Ultraviolet Absorption
Spectra of Actomyosin.
J. Polymer. Sc. V 2, 145 (1950)
55. Schauenstein, E. Ultraviolet Absorption Spectra of Proteins.
Disc. Faraday Soc. 5, 491 (1950)
56. Shirley, St., G. Friedmann, M., Tadashi, I.
Intracellular Distribution of Digitoxin.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 83, 318 (1953)
57. Smith, J.R., Fozzard, H.A. Localisation of tritiated Digitoxin in the
Myocardial Cells of Frogs and Dogs by Auto-
radiography combined with Electron Microscopy.
Nature 197, 562 (1963)
58. Snellman, O., Gelotte, B. A Reaction between Deaminase and Heart-
action and Inhibition of the Effect with cardiac
Glycosides.
Nature 165, 604 (1950)
59. Snellman, O. Symposion on Heartmuscle; concerning Contractile
Proteins and Cardiac Glycosides.
Scand. J. Clin. Invest. 2, 248 (1950)
60. Spratt, J.L., Okita, G.T. Protein Binding of Radioactive Digitoxin.
J. Pharm. ex. Ther. 124, 109 (1958)

61. Stutz, H., Feigelson, E., Emerson, J., Bing, R.J.
The Effect of Digitalis (Cedilanid) on the
mechanical and electrical Activity on
extracted and non-extracted Heartmuscle-
Preparations.
Circulat. Res. 2, 555 (1954)
62. Sulser, F., Wilbrandt, W. Die Wirkung von Corticosteroiden und
Herzglycosiden auf den Ionentransport im
Erythrocyten.
Helv. Phys. Pharm. Acta 15, c 37 (1957)
63. Szent Györgyi, A. Chemical Physiology of Contraction in Body-
and Heartmuscle.
Acad. Press NY. 1953
64. Tanford, Ch., Roberts, G.L.
Phenolic Hydroxyl Ionisation in Proteins.
(Bovin Serum Albumin).
J. Am. Chem. Soc. 74, 2509 (1952)
65. Tubbs, F.E., Crevasse, L., Wheat, M.W., jr.
Localisation of Tritiated Digitoxin in Dog
Myocardium by Electronic Microscopic
Autoradiography.
Circulat. Res. 14, 236 (1964)
66. Ungar, G., Aschheim, E., Psychoyos, S., Romano, D.V.
Reversible Changes of Protein Configuration in
stimulated Nerve Structures.
J. gen. Phys. 40, 635 (1956)
67. Yanari, S., Bovey, F.A. Interpretation of Ultraviolet Spectral Changes
of Proteins.
J. Biol. Chem. 235, 2818 (1960)
68. Waser, P.G. Über die Wirkung von Herzglycosiden auf
Actomyosin.
Cardiologia 29, 214 (1956)
69. Waser, P.G. Über die Wirkung von Herzglycosiden auf
Actomyosin. Thixotropieveränderungen.
Helv. Phys. Pharm. Acta 15, 125 (1957)

70. Waser, P.G. Über den Wirkungsmechanismus von Herzglycosiden.
Schweiz. Med. Wschr. 27, 819 (1962)
71. Weber, H.H. Muskelkontraktion, Zellmotilität und ATP.
Biochem. Biophys. Acta 12, 150 (1953)
72. Wetlaufer, D.B. Ultraviolet Spectra of Proteins and Amino Acids.
Adv. Prot. Chem. 17, 303 (1962)
73. Wetlaufer, D.B., Edsall, J. T., Hollingworth, B.R. Ultraviolet Difference Spectra of Tyrosine Groups in Proteins and Amino Acids.
J. Biol. Chem. 233, 1421 (1958)
74. Wollenberger, A. Metabolic Action of Cardiac Glycosides; Influence in Respiration of Heartmuscle and Brain Cortex.
J. Pharm. exp. Ther. 91, 39 (1949)
75. Wollenberger, A. The Energy Metabolism of Failing Heart and Metabolic Action of Cardiac Glycosides.
J. Pharm. exp. Ther. 97, 311 (1949)
76. Wollenberger, A. Metabolic Action of Glycosides II. Effect of Ouabain and Digitoxin on the energy-rich Phosphate-Content of the Heart.
J. Pharm. exp. Ther. 103, 123 (1951)

LEBENS LAUF

Ich, Karl Dieke Poppinga Haverkamp, wurde am 9. Juli 1938 in Leer/Ostfriesland als Sohn des Tierzuchtinspektors Franz Haverkamp und seiner Ehefrau Johanne, geb. Poppinga, geboren. Nach Besuch der Grundschule war ich seit 1949 Schüler des Gymnasium für Jungen in Leer, wo ich im März 1958 das Abitur bestand. Seit 1958 studierte ich Medizin, die vorklinischen Semester in Frankfurt/M., die klinischen in München. Hier bestand ich im August 1964 das Staatsexamen.

Nach Ableistung meiner Medizinal-Assistentenzeit in Straubing und München erhielt ich im November 1966 meine Approbation als Arzt. Seither bin ich auf einer internen Abteilung in München als Assistenzarzt tätig.

